

УДК 581.14

## ЗАВИСИМОСТЬ СКОРОСТИ РОСТА КОРНЯ ОТ ГОЛОПЛОИДНОГО СОДЕРЖАНИЯ ДНК

© 2019 г. Н. В. Жуковская<sup>а</sup>, \*, Е. И. Быстрова<sup>а</sup>, Н. Ф. Лунькова<sup>а</sup>, В. Б. Иванов<sup>а</sup>, \*\*<sup>а</sup>Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая улица, 35, Москва, 127276 Россия

\*e-mail: nataliazhukovskaya@mail.ru

\*\*e-mail: ivanov\_vb@mail.ru

Поступила в редакцию 10.04.2019 г.

После доработки 26.05.2019 г.

Принята к публикации 02.06.2019 г.

Анализ зависимости скорости роста корней разных видов от голоплоидного содержания ДНК показал слабую отрицательную зависимость между этими параметрами у первичных корней проростков двудольных и у придаточных корней лилиоидов, и отсутствие зависимости у первичных корней проростков однодольных. Относительная скорость растяжения клеток коры у первичных корней проростков двудольных также уменьшалась с увеличением голоплоидного содержания ДНК. Полученные данные являются еще одним примером зависимости скорости физиологического процесса от размера генома, который непосредственно не связан с репликацией ДНК.

**Ключевые слова:** корень, скорость роста, голоплоидное содержание ДНК

**DOI:** 10.1134/S0475145019050112

### ВВЕДЕНИЕ

В ходе эволюции размер голоплоидного генома ( $C_{val}$ ) растений может, как увеличиваться, так и уменьшаться (Soltis et al., 2003; Bennett, Leitch, 2005; Шереметьев и др., 2011; Leitch, Leitch, 2013). У современных травянистых покрытосеменных растений он варьирует более чем в 2300 раз от 0.065 пг у *Genlisea aurea* (Greilhuber, Leitch, 2012) до 152.23 пг у *Paris japonica* (Pellicer et al., 2010). Данные о размере генома у разных видов собраны в базе данных “Plant DNA C-values Database” of Kew Royal Botanical Gardens (Leitch et al., 2019). Различные значения  $C_{val}$  найдены не только у видов из разных семейств, но и у видов одного семейства. Уже давно обратили внимание на отсутствие корреляции между размерами генома и эволюционным положением организма, что получило название “С-парадокс” (Gregory, 2001). Однако в многочисленных исследованиях была обнаружена корреляция между  $C_{val}$  и некоторыми показателями, характеризующими рост и морфогенез растений (Greilhuber, Leitch, 2012). К ним относятся: длительность митотического цикла в корнях (Van’t Hof, Sparrow 1963; Van’t Hof, 1967; Evans, Rees, 1971; Evans et al., 1972; Olszewska et al., 1990; Иванов, 1987, 2011; Francis et al., 2008), минимальная продолжительность жизненного цикла (Bennett, 1972), размеры меристематических и закончивших рост клеток в листьях (Beaulieu, 2008) и корнях (Simova, Herben, 2012; Жуковская и др., 2016), скорость

роста корней проростков (Gruner et al., 2010), размеры пыльцевых зерен (Beaulieu, 2008), жизненная форма растений и скорости различных физиологических процессов (Гамалей, Шереметьев, 2012).

Скорость роста корней в первые дни после прорастания семян имеет важное значение для дальнейшего роста растений и его онтогенеза. В исследованиях Грюнера (Gruner et al., 2010) была обнаружена отрицательная корреляция между  $C_{val}$  и скоростью роста корней. Однако, как отмечали сами же авторы, ими было исследовано лишь небольшое число видов двудольных (8 видов из 4 семейств) и совсем не изучены однодольные и голосеменные.

В настоящей работе на значительно большем числе видов была исследована корреляция между  $C_{val}$  и скоростями роста корней ( $V$ ), относительными скоростями роста клеток коры корня растяжением ( $K_c$ ) и длинами зон растяжения ( $L_c$ ) у растений, принадлежащим к разным таксономическим группам. Были изучены первичные корни проростков 53 видов однодольных и 76 видов двудольных, относящихся к различным семействам, а также придаточные корни 26 видов лилиоидов из семейств Amaryllidaceae, Asparagaceae, Liliaceae.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Семена проращивали в чашках Петри на фильтрованной бумаге, смоченной водопровод-

**Таблица 1.** Число изученных видов ( $n$ ) и средние значения голоплоидного содержания ДНК ( $C_{val}$ ), скорости роста корней ( $V$ ), относительной скорости растяжения клеток ( $K_e$ ), длины зоны растяжения ( $L_e$ ) у первичных корней проростков однодольных и двудольных и у придаточных корней лилиоидов

Ранги	$n$	$C_{val}$ , пг	$V$ , мм/ч	$L_e$ , мкм	$K_e$
Однодольные	53	$8.4 \pm 0.8$	$0.65 \pm 0.05$	$1950 \pm 180$	$0.4 \pm 0.03$
Двудольные	76	$4.2 \pm 0.45$	$0.5 \pm 0.04$	$1850 \pm 155$	$0.3 \pm 0.01$
Лилиоиды	26	$20.4 \pm 2.3$	$0.3 \pm 0.03$	$2950 \pm 300$	$0.1 \pm 0.01$

ной водой, пропущенной через магистральный бытовой фильтр, в термостате при температуре  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  без освещения. Семена не стерилизовали. Придаточные корни получали из лукович и корневищ, высаженных в затемненные стеклянные сосуды с фильтрованной водопроводной водой при температуре  $23^\circ\text{C}$ . Методика выращивания проростков и получения придаточных корней подробнее описана в работах (Жуковская и др., 2016; Быстрова и др., 2018; Zhukovskaya et al., 2018). Определяли прирост стационарно растущих корней за 24 ч, кончики которых длиной 1–1.5 см затем фиксировали в 70% этаноле. Корни после фиксации ополаскивали дистиллированной водой и переносили в 50% глицерин. Корни более 1 мм в диаметре перед фиксацией разрезали вдоль лезвием бритвы, фиксировали в 70% этаноле и осветляли по модифицированному методу (Malamy, Benfey, 1997), инкубируя в течении 15 минут в 0.24 н HCl при температуре  $57^\circ\text{C}$ , затем в 7% NaOH и после в 60% этаноле в течении 15 минут в каждом растворе при комнатной температуре. Затем корни помещали на 5 минут в 40, 20, 10 и 5% этанол, после чего переносили на 15 минут в 25% глицерин и далее в 50% глицерин. На временных неокрашенных препаратах в 50% глицерине под микроскопом (Olympus CX-41) с помощью окулярной линейки измеряли длину зоны растяжения ( $L_e$ ). Скорость роста корня ( $V$ ) рассчитывали по формуле  $V = \Delta L / \Delta t$ , где  $\Delta L$  – прирост корня за период  $\Delta t$ , равный в опытах 24 ч. На основании измеренных параметров вычисляли относительную скорость растяжения клеток коры ( $K_e$ ) по формуле ( $K_e = V / L_e$ ). В корнях нет скользящего роста, поэтому и относительная скорость роста клеток всех тканей одинакова на одном и том же расстоянии от кончика корня.

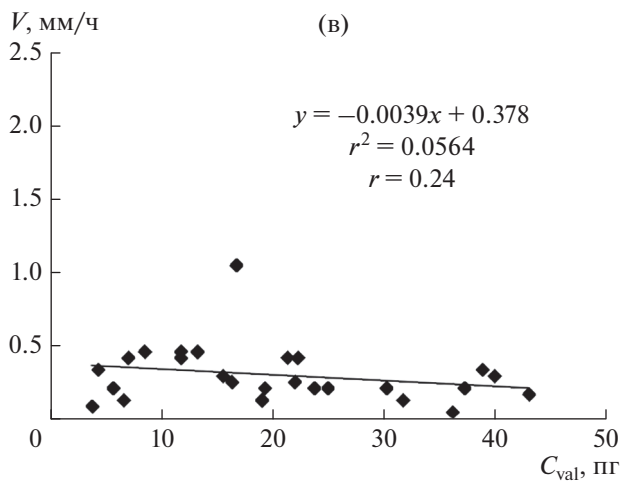
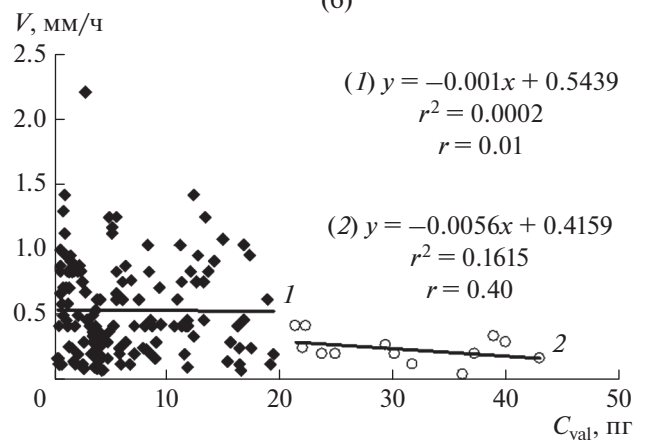
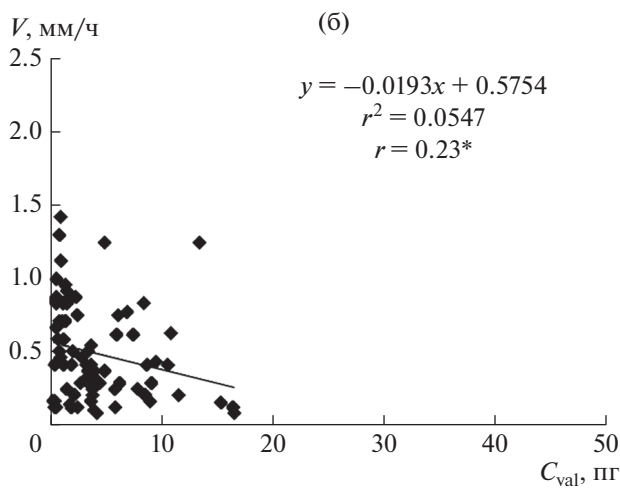
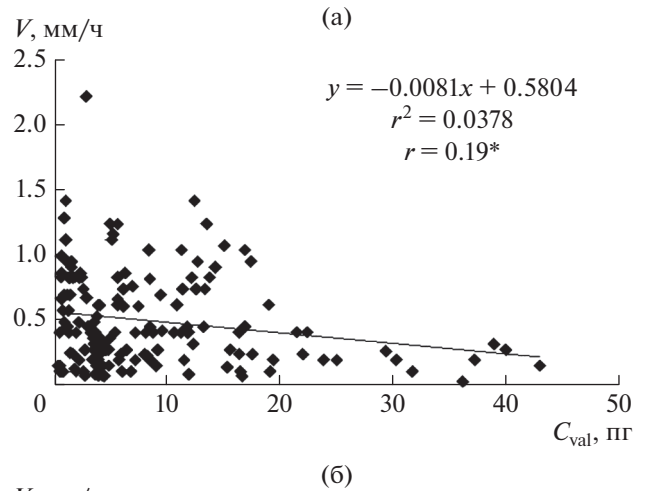
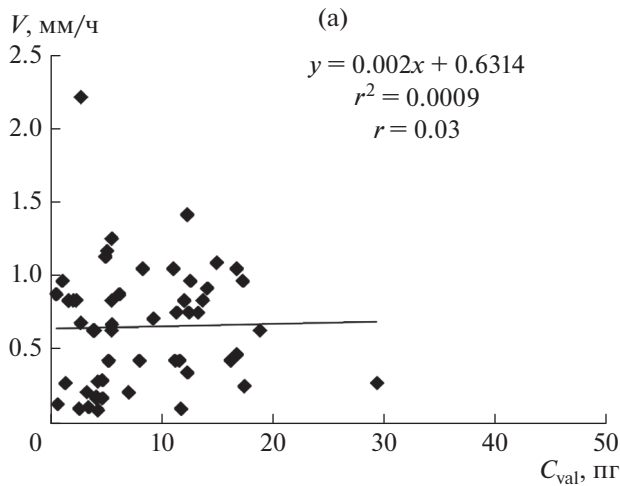
Исследовали по 8–10 корней каждого вида в двух повторностях опыта. Данные представлены как средние значения и их ошибки. Для оценки возможной связи между скоростями роста и голоплоидным содержанием ДНК были определены коэффициенты корреляции ( $r$ ). Обработку данных проводили в среде Excel 2007 и SigmaPlot 12. Величины голоплоидного содержания ДНК для изучаемых нами видов были взяты из базы данных ДНК растений (<http://data.kew.org/cvalues/>).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Наблюдения показали, что скорость роста первичных корней ( $V$ ) разных видов однодольных варьировала в 22 раза от 0.1 до 2.2 мм в час, у двудольных – в 14 раз от 0.1 до 1.4 мм в час, у придаточных корней лилиоидов – в 20 раз от 0.05 до 1 мм в час (табл. 1). У придаточных корней лилиоидов среднее значение  $V$  было наименьшим, в то время как их среднее значение  $C_{val}$  было гораздо выше, чем у первичных корней проростков видов из других семейств. У проростков однодольных средние значения как  $C_{val}$ , так и  $V$  были выше, чем у двудольных.

У первичных корней проростков разных видов однодольных зависимость  $V$  от  $C_{val}$  не выявлялась (рис. 1а), а у первичных корней проростков двудольных наблюдалась слабая отрицательная корреляция (рис. 1б). Однако последняя была выражена слабее, чем в работе (Gruner et al., 2010), где было изучено только 8 видов. У придаточных корней лилиоидов была обнаружена слабая отрицательная корреляция между  $V$  и  $C_{val}$  (рис. 1в). Если сопоставить полученные результаты для всех видов, то также обнаруживается слабая отрицательная зависимость  $V$  от  $C_{val}$  (рис. 2а). Причем более явное замедление роста корней происходило при  $C_{val}$  больше 20 пг, в то время как при меньших значениях  $C_{val}$  такой корреляции не было (рис. 2б). Стоит отметить, что почти все высокие значения  $C_{val}$  характерны для придаточных корней лилиоидов.

Зона роста корня состоит из меристемы, в которой клетки делятся, и зоны растяжения, в которой клетки растут и достигают окончательного размера ( $L_e$ ). Растягивающиеся клетки растут значительно быстрее, чем меристематические. Поэтому  $V$  практически равна произведению длины зоны растяжения ( $L_e$ ) на величину относительной скорости роста растягивающихся клеток ( $K_e$ ). Наибольшая  $L_e$  была в придаточных корнях лилиоидов и мало различалась в первичных корнях проростков однодольных и двудольных (табл. 1). Увеличение длины закончивших рост клеток у лилиоидов с возрастанием  $C_{val}$  компенсирует снижение  $K_e$  и поэтому рост придаточных корней замедляется не так сильно.



**Рис. 1.** Зависимость скорости роста корня ( $V$ ) от голоплоидного содержания ДНК ( $C_{val}$ ) у изученных первичных корней проростков однодольных (а), двудольных (б) и придаточных корней лилиоидов (в).

**Рис. 2.** Зависимость скорости роста корня ( $V$ ) от голоплоидного содержания ДНК ( $C_{val}$ ) у корней всех изученных видов (а) и у корней всех изученных видов с  $C_{val}$  до 20 пг (1) и больше 20 пг (2) (б).

Корни, которые были изучены, росли стационарно с постоянной скоростью. В стационарно растущих корнях скорость роста определяется скоростью образования новых клеток и длиной клеток, закончивших рост ( $l_e$ ). В проведенных экспериментах измерения показали, что у корней однодольных  $l_e$  увеличивалось с возрастанием  $C_{val}$  (Жуковская и др., 2016), что компенсировало снижение скорости образования клеток, связанное с удлинением митотического цикла (Francis et al., 2008). Это объясняет, почему  $V$  не изменяется с увеличением  $C_{val}$ . В придаточных корнях лилиоидов и корнях двудольных такой компенсации мы не наблюдали, и поэтому  $V$  снижалась с увеличением  $C_{val}$ .

Зависимость продолжительности митотического цикла от  $C_{val}$  объясняют тем, что с увеличением содержания ДНК ( $C_{val}$ ) замедляется скорость репликации ДНК необходимой для деления клеток (Francis et al., 2008). Рост растяжением не свя-

**Таблица 2.** Коэффициенты корреляции между голоплоидным содержанием ДНК ( $C_{val}$ ) и скоростью роста корней ( $V$ ), длиной зоны растяжения ( $L_c$ ), относительной скоростью растяжения клеток ( $K_c$ ) у корней проростков однодольных и двудольных и придаточных корней лилиоидов (достоверно для \*  $p = 0.05$ ; \*\*  $p = 0.01$ )

Ранги	$V$	$L_c$	$K_c$
Все виды	-0.19*	0.3**	-0.35**
Однодольные	0.03	0.3	-0.12
Двудольные	-0.23*	0.01	-0.3**
Лилиоиды	-0.24	-0.02	-0.3

зан с синтезом ДНК, и поэтому изменение  $K_c$  с увеличением  $C_{val}$  представляет большой интерес.

В настоящей работе были впервые измерены скорости роста 155 видов растений и установлены корреляции между скоростями роста и голоплоидным содержанием ДНК. Ранее это было показано всего на 8 видах, относящихся к классу двудольных (Gruner et al, 2010). Наши данные подтверждают результаты Грюнера о снижении скорости роста корней с увеличением  $C_{val}$ . Однако при исследовании большего числа видов эта зависимость оказалась не столь выраженной, как описано в работе Грюнера, кроме того, у первичных корней проростков однодольных мы ее не обнаружили. Придаточные корни лилиоидов, которые отличаются наибольшими значениями  $C_{val}$ , растут медленнее первичных корней проростков однодольных и двудольных.

Полученные нами данные показывают еще один пример зависимости от размера генома скорости физиологического процесса, который непосредственно не связан с репликацией ДНК.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант РФФИ № 18-04-00918-а).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Жуковская Н.В., Быстрова Е.И., Иванов В.Б. Зависимость размеров меристематических и закончивших рост клеток от содержания ДНК в расчете на гаплоидное число хромосом // *Онтогенез*. 2016. Т. 47. № 6. С. 346–356.
- Быстрова Е.И., Жуковская Н.В., Иванов В.Б. Зависимость процессов роста и деления клеток в корне от его диаметра // *Онтогенез*. 2018. Т. 49. № 2. С. 91–100.
- Гамалей Ю.В., Шереметьев С.Н. Направление эволюции генома наземных и вторичных водных трав // *Цитология*. 2012. Т. 6. С. 445–458.
- Иванов В.Б. Пролиферация клеток в растениях. Итоги науки и техники. Серия “Цитология”. Т. 5. М.: ВИНТИ, 1987. 220 с.
- Иванов В.Б. Клеточные механизмы роста растений. М.: Наука, 2011. 104 с.
- Шереметьев С.Н., Гамалей Ю.В., Слемнев Н.Н. Направление эволюции генома покрытосеменных // *Цитология*. 2011. Т. 53. С. 295–312.
- Beaulieu J.M., Leitch I.J., Patel S. et al. Genome size is a strong predictor of cell size and stomatal density in angiosperms // *New Phytol.* 2008. V. 179. P. 975–986.
- Bennett M.D., Finch R.A. The mitotic cycle time of root meristem cells of *Hordeum vulgare* // *Caryologia*. 1972. V. 25. P. 439–444.
- Bennett M.D., Leitch I.J. Genome size evolution in plants // *The Evolution of the Genome* / Ed. Gregory T.R. San Diego: Elsevier, 2005. P. 89–162.
- Evans G.M., Rees H. Mitotic cycles in Dicotyledons and Monocotyledons // *Nature*. 1971. V. 233. P. 350–351.
- Evans G.M., Rees H., Snell C.L. et al. The relationship between nuclear DNA amount and time duration of the mitotic cycle // *Chromosome Today*. 1972. V. 3. P. 24–31.
- Francis D., Davies M.S., Barlow P.W. A strong nucleotypic effect on the cell cycle regardless of ploidy level // *Annals Bot.* 2008. V. 101. P. 747–757.
- Gregory T.R. Coincidence, coevolution or causation? DNA content, cell size and the C-value enigma // *Biol. Rev.* 2001. V. 76. P. 65–101.
- Greilhuber J., Leitch I.J. *Plant Genome Diversity Volume 2: Physical Structure, Behaviour and Evolution of Plant Genomes*. Springer, 2012. 352 p.
- Gruner A., Howerter N., Smith T. et al. Genome size is a strong predictor of root meristem growth rate // *J. Botany*. 2010. P. 1–4.
- Leitch I.J., Johnston E., Pellicer J., et al. *Plant DNA C-values Database (Release 7.1)*, <https://cvalues.science.kew.org/>, 2019.
- Leitch I.J., Leitch A.R. *Genome Size Diversity and Evolution in Land Plants*. J. Leitch et al. Springer, 2013. P. 307–322.
- Leitch I.J., Leitch A.R. *Genome Size and the Phenotype*. J. Leitch et al. Springer, 2013. P. 323–344.
- Malamy J.E., Benfey P.N. Organization and cell differentiation in lateral roots of *Arabidopsis thaliana* // *Development*. 1997. V. 124. P. 33–44.
- Olszewska M.J., Bilecka A., Kuran H. et al. Dry mass and protein increase during interphase as a possible factor regulating the cell cycle duration // *Caryologia*. 1990. V. 43. P. 43–55.
- Pellicer J., Fay M.F., Leitch I.J. The largest eukaryotic genome of them all? // *Bot. J. Linn. Soc.* 2010. V. 164. № 1. P. 10–15.
- Simova I., Herben T. Geometrical constraints in the scaling relationships between genome size, cell size and cell cycle length in herbaceous plants // *Proc. R. Soc. B*. 2012. V. 279. P. 867–875.
- Soltis D.E., Soltis P.S., Bennett M.D. et al. Evolution of genome size in the angiosperms // *Annals Bot.* 2003. V. 90. P. 1596–1603.
- Van't Hof J. Studies on the relationships between cell population and growth kinetics of root meristem // *Exp. Cell Res.* 1967. V. 46. P. 335–347.
- Van't Hof J., Sparrow A.H. A relationship between DNA content, nuclear volume, and minimum mitotic cycle time // *PNAS, Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1963. V. 49. P. 897–902.
- Zhukovskaya N.V., Bystrova E.I., Dubrovsky J.G., Ivanov V.B. Global analysis of an exponential model of cell proliferation for estimation of cell cycle duration in the root apical meristem of angiosperms // *Annals Bot.* 2018. V. 122. P. 811–822.

**Dependence of Root Growth Rate on Holoploid DNA Content****N. V. Zhukovskaya<sup>1,\*</sup>, E. I. Bystrova<sup>1</sup>, N. F. Lunkova<sup>1</sup>, and V. B. Ivanov<sup>1,\*\*</sup>**<sup>1</sup>*Timiryazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences,  
ul. Botanicheskaya 35, Moscow, 127276 Russia**\*e-mail: nataliazhukovskaya@mail.ru**\*\*e-mail: ivanov\_vb@mail.ru*

Received April 10, 2019; revised May 26, 2019; accepted June 2, 2019

Analysis of the dependence of the growth rate of roots of different species on the holoploid DNA content showed a weak negative relationship between these parameters in the primary roots of the dicot seedlings and in the adventitious lilioids root, and the absence of dependence on the primary roots of monocot seedlings. The relative elongation rate of the cortex cells at the primary roots of seedlings of dicot also decreased with an increase in the holoploid DNA content. The data obtained is another example of the dependence of the rate of the physiological process on the size of the genome, which is not directly related to DNA replication.

*Keywords:* root, growth rate, holoploid DNA content